

بررسی اثر زنجبیل بر روی الگوی الکتروفوریک اجزای پروتئینی سرم موش نر

دکتر مهرداد مدرسی*^۱، دکتر منوچهر مصری پور**^۲، دینا ظهراپی***^۳

*استادیار گروه علوم دامی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، **استاد گروه بیوشیمی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، ***کارشناس

ارشد علوم جانوری - دانشگاه پیام نور اصفهان.

تاریخ دریافت: ۱۶/۲/۱۲ تاریخ تایید: ۱۶/۸/۹

چکیده:

زمینه و هدف: زنجبیل (*Zingiber officinale*) به عنوان ادویه در رژیم غذایی بسیاری از مناطق دنیا استفاده می شود. تحقیقات اخیر نشان داده است که زنجبیل بسته به ترکیبات فعال مختلف (شامل شوگال ها و جینجرول ها)، اثرات دارویی مختلفی دارد. هدف این مطالعه تعیین اثر عصاره الکلی زنجبیل بر روی الگوی الکتروفوریک اجزای پروتئینی سرم در موش های کوچک آزمایشگاهی بوده است. روش بررسی: در این مطالعه تجربی چهار گروه موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ (۸ موش در هر گروه) برای آزمایش استفاده شد. گروه یک (گروه کنترل) نرمال سالین و سه گروه دیگر سه دوز متفاوت ۱۰ mg/kg (گروه ۲)، ۲۰ mg/kg (گروه ۳) و ۴۰ mg/kg (گروه ۴) عصاره الکلی زنجبیل را هر ۴ ساعت به مدت بیست روز از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند. سپس خون گیری از طریق سینوس چشمی انجام و سطوح پروتئینی پره آلبومین، آلفا-۱، آلفا-۲، بتا و گاما گلوبولین ها با روش الکتروفورز جدا و به کمک برنامه ویژه کامپیوتری تفکیک پروتئین های سرم اندازه گیری شد. نسبت A/G (نسبت آلبومین به گلوبولین) با استفاده از الگوی الکتروفور توگرام محاسبه گردید. داده ها با استفاده از آزمون توکی و آزمون تعقیبی تجزیه و تحلیل شدند. یافته ها: عصاره الکلی زنجبیل به طور معنی داری سطوح آلبومین و پروتئین تام سرم را در گروه سوم (۳/۷±۰/۲۵ g/dl) و چهارم (۳/۷۱±۰/۳۷ g/dl) در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (P<۰/۰۵). اما در سطوح پره آلبومین و آلفا-۱، آلفا-۲، بتا و گاماگلوبولین ها تغییرات قابل توجهی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نسبت A/G به طور معنی داری در گروه سه (۲/۰۵±۰/۴۸ g/dl) بیشتر از گروه کنترل (۱/۳۷±۰/۱۶ g/dl) بود (P<۰/۰۵). نتیجه گیری: با توجه به اینکه زنجبیل تاثیری در سنتز گلوبولین ها نداشت به نظر می رسد بدون تحریک آنتی ژنیک نمی توانسته تاثیر قابل ملاحظه ای در تولید گلوبولین ها داشته باشد. ولی با توجه به این که سنتز آلبومین در کبد انجام می گیرد، افزایش سنتز آلبومین را می توان به عنوان یک نشانه در بهبود فعالیت سلول های کبدی پیشنهاد نمود.

واژه های کلیدی: آلبومین، پروتئین تام، سرم، زنجبیل.

مقدمه:

رنگ گل ها، مایل به زرد و منقوش به لکه هایی به رنگ قهوه ای است. قسمت مورد استفاده، ریزوم آن است. زنجبیل دارای ۲/۵ تا ۳ درصد اسانس است و محتوای آن بر مبنای منشا متفاوت است اما به طور عمده از سزکویی ترین هایی مثل زینجیرن، کورکومن، بتایزابولن و فارتزن تشکیل شده است. ترکیبات تند غیر فرار آن را جینجرول ها و شوگال ها تشکیل می دهند.

زنجبیل در زبان فرانسوی، Gingembre و در انگلیسی به Ginger معروف است. گیاهی است چند ساله از خانواده Zingiberaceae با نام علمی *Zingiber officinale* Rosco می باشد. دارای ریزوم غده ای ناهموار و منشعب، برگ های متناوب، دراز و نوک تیز و ساقه ای گلداری که به طور مستقیم از ریزوم خارج شده و در انتها به گل های زیبایی مجتمع به صورت سنبله ختم می شود.

جهت تهیه عصاره زنجبیل ۱/۲ گرم پودر خشک ریزوم زنجبیل را در یک ارلن ریخته، ۳ میلی لیتر الکل ۹۰ درصد به آن اضافه شد. بعد از ۴۸ ساعت مخلوط روی کاغذ واتمن که از قبل وزن آن اندازه گیری شده بود، صاف شد و حجم محلول صاف گردیده به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. پس از عبور محلول، کاغذ و پودر روی آن در دستگاه فور با حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت کاملاً خشک شد. با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن کاغذ صافی و پودر خشک روی آن اندازه گیری گردید و با انجام محاسبات، وزن عصاره استخراج شده تعیین و غلظت های مورد استفاده تهیه گردید.

پس از پایان تیمار، از طریق سینوس چشمی از موش ها خونگیری شد و با استفاده از دستگاه سانتریفوژ، سرم جدا گردید و از روش الکتروفورز با ماده زمینه ای استات سلولوز، پروتئین های پلاسما تفکیک شدند. پروتئین های تفکیک شده روی کاغذ، به طور کمی توسط برنامه ویژه کامپیوتری تفکیک پروتئین های سرم پس از اسکن کردن اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آزمون توکی و آزمون تعقیبی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها:

در الکتروفورز سرم موش های کوچک آزمایشگاهی روی استات سلولوز و سپس اسکن دانسیتومتر علاوه بر موج های مربوط به پروتئین های آلبومین، α_1 ، α_2 ، β و γ که در الکتروفورز سرم انسان دیده می شود موجی از پروتئین های پره آلبومین نیز به وضوح دیده شد (تصویر شماره ۱).

میانگین سطح زیر منحنی پره آلبومین در الکتروفورتوگرام خون موش های گروه کنترل و گروه های تجربی مقایسه و با استفاده از آزمون توکی

ترکیبات مشابهی مانند جینجردیول و آنالوگ هایش نیز وجود دارد. دیگر ترکیبات دی آریل هپتانوئیدی مثل جینجرون های A-C، ایزوجینجرون B و جینجردیون هم جداسازی شده اند (۱). امروزه زنجبیل در رژیم غذایی انسان جایگاه ویژه ای دارد (۲).

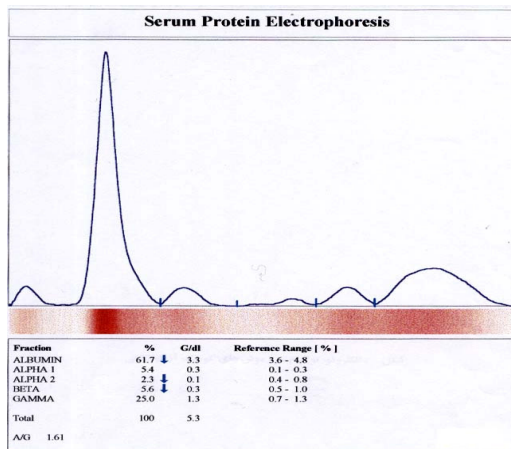
تحقیقات نشان داده است که زنجبیل باعث کاهش سطوح لیپید پلاسما و پراکسیداسیون لیپید می شود (۳،۴)، اثرات ضد استفراغی دارد (۵) و باعث ممانعت از تجمع پلاکت ها می شود (۶)، اثرات ضد التهابی (۷)، ضد باکتری (۸،۹)، ضد توموری (۹،۱۰) و اثرات آنتی اکسیدانی (۱۱،۱۲) دارد و باعث افزایش جریان خون روده ای و تحریک نقل و انتقالات روده کوچک می شود (۱۳،۱۴). در مورد اثرات فارماکولوژیکی زنجبیل روی موارد ذکر شده گزارش های بسیاری وجود دارد ولی اطلاعات کمی در مورد اثر زنجبیل بر روی فعالیت کبد وجود داشت و این نکته نیز حائز اهمیت است که ترکیب یک دارویی مفید می بایست فاقد اثرات جانبی باشد. لذا این مطالعه با هدف بررسی تاثیر عصاره زنجبیل روی اجزای پروتئینی سرم در موش های کوچک آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش سوری استفاده شد. ابتدا موشها به مدت یک ماه برای سازگاری با محیط در شرایط جدید قرار گرفتند و سپس به چهار گروه هشت تایی تقسیم شدند. به گروه اول (گروه کنترل) نرمال سالین و به گروه های دوم، سوم و چهارم به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($0/1^{cc}$ به ازای هر ۵ گرم وزن بدن موش) عصاره زنجبیل به مدت ۲۰ روز یک روز در میان بین ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

چهار (۳/۷۱±۰/۳۷ g/dl) در مقایسه با گروه کنترل (۲/۹۶±۰/۱۹ g/dl) افزایش معنی دار داشت (P<۰/۰۵). گروه دو در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشت.

مقایسه میانگین غلظت پروتئین های آلفا-۱، آلفا-۲، بتا و گاما تفاوت معنی داری را بین گروه های تجربی با گروه کنترل نشان نداد. در حالی که بین میانگین پروتئین تام گروه سه و گروه چهار در مقایسه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).



تصویر شماره ۱: الکتروفورئوگرام سرم موش های گروه کنترل نشان دهنده موجی از پره آلبومین است که در انسان مشاهده نمی شود.

بین میانگین نسبت آلبومین به گلوبولین (A/G) در سرم خون موش های گروه سه در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵). گروه دو و گروه چهار در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشتند (جدول شماره ۱).

تفاوت معنی داری مشاهده نشد. میانگین غلظت آلبومین، بین گروه سه (۳/۷±۰/۲۵ g/dl) و گروه

جدول شماره ۱: مقادیر پروتئین های پلاسمای موش های کوچک آزمایشگاهی در گروه های مورد بررسی

نام گروهها	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
نوع پروتئین				
پروتئین پره آلبومین	۰/۴۶±۰/۱۶	۰/۳۹±۰/۰۸۳	۰/۵۱±۰/۲۶	۰/۵۷±۰/۰۸۹
پروتئین آلبومین	۲/۹۶±۰/۱۹	۲/۹۱±۰/۲۱	۳/۷±۰/۲۵	۳/۷۱±۰/۳۷
پروتئین آلفا ۱	۰/۳۳±۰/۰۷۵	۰/۳۴±۰/۰۵۲	۰/۳۱±۰/۰۳۵	۰/۳۷±۰/۰۴۶
پروتئین آلفا ۲	۰/۳±۰/۱۳	۰/۴±۰/۱۱	۰/۲۲±۰/۰۸۹	۰/۲۹±۰/۰۶۴
پروتئین بتا	۰/۳۶±۰/۰۷۹	۰/۴۶±۰/۱۱	۰/۳۶±۰/۰۷۴	۰/۴۲±۰/۰۸۹
پروتئین گاما	۱/۱۴±۰/۲۸	۱/۱۹±۰/۰۸۳	۰/۹۶±۰/۳۱	۱/۱۱±۰/۲۱
پروتئین تام	۵/۱۳±۰/۱۸	۵/۲۹±۰/۱۳	۵/۵۲±۰/۲	۵/۹۱±۰/۴۲
نسبت A/G	۱/۳۷±۰/۱۶	۱/۲۳±۰/۱۶	۲/۰۵±۰/۴۸	۱/۷۴±۰/۳۵

A/G = میانگین نسبت آلبومین به گلوبولین. گروه ۱: (گروه کنترل) دریافت کننده نرمال سالین. گروه ۲: دریافت کننده ۱۰ mg/kg عصاره الکلی زنجبیل هر ۴۸ ساعت. گروه ۳: دریافت کننده ۲۰ mg/kg عصاره الکلی زنجبیل هر ۴۸ ساعت. گروه ۴: دریافت کننده ۴۰ mg/kg عصاره الکلی زنجبیل هر ۴۸ ساعت. واحد سنجش پروتئین ها g/dl می باشد. داده ها بر اساس "انحراف معیار میانگین" می باشد. *P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل.

بحث:

آنالیز آلبومین تازه سنتز شده در داخل یاخته، نمایانگر وجود یک مولکول پیش ساز به نام «پره آلبومین» است (۱۵). این پیش ساز در ناحیه انتهای آمینی خود واجد یک هگزاپپتید اضافی است. در ساختمان اولیه آلبومین، ۳۵ اسید آمینه سیستین وجود دارد که ۳۴ عدد آنها در ایجاد پیوند دی سولفیدی داخل مولکول شرکت می کنند و تنها یک سیستین به صورت آزاد باقی می ماند. در صورتی که آلبومین به مدت چند روز نگهداری شود، به واسطه این سیستین آزاد شکل دوتایی (دایمر) آن پدید می آید (۱۵) که ندرتاً در الکتروفورز خود را به صورت یک نوار اضافی در ناحیه آلبومین نشان می دهد. مقایسه الکتروفور توگرام انسان و موش های کوچک آزمایشگاهی نشان می دهد که مقدار پره آلبومین در سرم انسان، کمتر از حد قابل مشاهده در الکتروفورز آن است اما الکتروفور توگرام موش های کوچک آزمایشگاهی به طور خیلی مشخص، وجود نوار پره آلبومین را نشان می دهد که حاکی از مقدار بالای پره آلبومین در سرم موش ها می باشد.

سنتز آلبومین در بیماری های مختلف به خصوص در بیماری های کبدی، کاهش می یابد (۱۶، ۱۷). بنابراین افزایش مقدار آلبومین در گروه های سه و چهار نشان می دهد که افزایش در مقدار دز مصرفی زنجبیل نه تنها آسیبی به بافت کبد نرسانده بلکه احتمال می رود که باعث افزایش در فعالیت کبدی شود. البته در مورد عمل کبد به غیر از اندازه گیری مقدار آلبومین، باید مقادیر پروتئین تام، گلبولین و نسبت آلبومین به گلبولین نیز بررسی گردد.

در این تحقیق، تغییر معنی داری در مقدار آلفا-۱-گلبولین در گروه های تجربی مشاهده نشد. بیشترین جز آلفا-۱-گلبولین ها را آلفا-۱-آنتی تریپسین تشکیل می دهد. کمبود آلفا-۱-آنتی تریپسین با آمفیزم و نوعی

بیماری کبدی ارتباط دارد (۱۷، ۱۸) اما در گروه های تحت مطالعه کاهش معنی داری مشاهده نشده است البته در گروه چهار (تیمار با ۴۰ mg/kg عصاره زنجبیل) افزایش غیر معنی داری در مقدار آلفا-۱-گلبولین به چشم می خورد.

آلفا-۱-آنتی تریپسین یکی از گلیکوپروتئین های سرم است که در پاسخ به آماس حاد افزایش می یابد (۸) ولی این افزایش ها از نقطه نظر بالینی ویژگی اندکی دارند و مختص به بیماری خاصی نیستند.

پروتئین های اصلی در نوار آلفا-۲-گلبولین، شامل آلفا-۲-ماکروگلبولین و هاپتوگلبولین می باشد (۱۵). استفاده از عصاره زنجبیل در این مطالعه، تغییر معنی داری را در مقدار آلفا-۲-گلبولین در گروه های تجربی به وجود نیاورد.

در سندروم نفروتیک، با از دست رفتن سایر پروتئین های کوچک، مقدار آلفا-۲-ماکروگلبولین به ده برابر یا حتی بیشتر افزایش می یابد (۱۷). در این بیماری پروتئین های با وزن کم به ویژه آلبومین فیلتره می شوند و در ادرار ظاهر می گردند و در الگوی الکتروفورزی افت آلبومین و آلفا-۱-گلبولین و افزایش آلفا-۲-ماکروگلبولین به چشم می خورد (۸). افزایش مقدار آلبومین در گروه های سه و چهار و عدم تغییر در مقدار آلفا-۱-گلبولین و آلفا-۲-گلبولین در گروه های تجربی، نشان می دهد که احتمالاً مقادیر افزایشده زنجبیل، تغییری در نفوذپذیری مویرگ های گلوبولین ایجاد نکرده است.

در این مطالعه، تغییر معنی داری در مقدار بتا-گلبولین نیز به چشم نمی خورد. ترانسفرین، بیشترین جز بتا-گلبولین را تشکیل می دهد. پروتئین فوق، یون های فریک را از ذخایر داخل یاخته ای آهن یا فریتین مخاطی، به مغز استخوان انتقال می دهد. تنظیم ترجمه

mRNA مولکول ترانسفرین در کبد (محل تولید آن)، متناسب با مقدار آهن خون و آهن موجود در اطراف هپاتوسیت ها صورت می گیرد (۶).

عدم تغییر معنی دار در مقدار ایمونوگلوبولین ها در گروه های تحت مطالعه در اثر تزریق زنجبیل نشان می دهد که سیستم ایمنی، در هیچ یک از گروه ها تحریک نشده و تزریق زنجبیل پاسخی را در گروه های دریافت کننده زنجبیل ایجاد نکرده است. همچنین، عدم کاهش در مقدار ایمونوگلوبولین ها، نشان می دهد که تزریق زنجبیل در گروه های تجربی، باعث مهار سیستم ایمنی نیز نمی شود.

همه داروها باید از نظر مهار کننده های سیستم ایمنی بررسی شوند. این مسئله در مطالعات توکسیکولوژی با تکرار دزها و استفاده از روش های کلینیکی و آسیب شناسی تشریحی استاندارد انجام می شود که شامل تعیین علائم یوشیمیایی سرم مثل سطوح گلوبولین، هماتولوژی، اطلاعات پاتولوژی، وزن اندام های وابسته به سیستم ایمنی و آزمایشات بافتی در مورد بافت های وابسته به سیستم ایمنی می باشد (۱۱). کاهش در سطوح گلوبولین سرم می تواند نشان دهنده زوال تولیدات ایمونوگلوبولین ها باشد. اگر چه کاهش سطوح سرم یک شاخص نسبتاً غیر حساسی است، به دلیل فعالیت طبیعی سیستم ایمنی، سیستم ایمنی باید با آنتی ژن مبارزه کند و پاسخ آنتی بادی برای تعیین مهار کنندگی سیستم ایمنی ارزیابی شود البته این بدین معنا نیست که زنجبیل اثری روی فعالیت سیستم ایمنی در موش های مبتلا به برخی بیماری ها ندارد.

این مطالعه بر روی موش های سالم انجام گرفت اما Liu و Zhu (۱۶) برای مطالعه اثر عصاره الکلی زنجبیل روی عمل ایمونولوژیکی موش های مبتلا به تومور، به موش ها دزهای ۱۰ g/kg و ۴۰ g/kg عصاره الکلی زنجبیل را به صورت دهانی خوراندند. در این

مطالعه بافت تیموس، بافت طحال، مقدار فاگوسیتوزها، مقدار α -ANAE⁺ و سطح همولیزین (IgM) به عنوان شاخص هایی برای ارزیابی اثر عصاره الکلی زنجبیل روی سیستم ایمنی موش های مبتلا به تومور استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره الکلی زنجبیل باعث افزایش معنی داری در شاخص های ذکر شده در موش های مبتلا به تومور در مقایسه با گروه کنترل گردید (۱۵).

بر اساس نتایج مقدار پروتئین تام در گروه سه و چهار به طور معنی داری افزایش یافته است. مطالعه Dugenci و همکارانش (۱۷) بر روی ماهی قزل آلائی رنگین کماتی (*Oncorhynchus mykiss*) با رژیم غذایی گیاهانی از جمله زنجبیل (*Zingiber officinale*) با مقدار ۰/۱ و ۱ درصد برای ۲ درصد از وزن بدن در هر روز به مدت سه هفته بود. در این مطالعه، کمترین مقدار پروتئین های پلاسما در گروهی که غذایش حاوی ۰/۱ درصد عصاره زنجبیل بود و بیشترین مقدار پروتئین های پلاسما در گروهی که غذایش حاوی ۱ درصد عصاره زنجبیل بود، مشاهده شد.

مطالعه بر روی موش های کوچک آزمایشگاهی نشان داد که با تزریق زنجبیل، مقدار نسبت آلبومین به گلوبولین در گروه سه (تیمار با ۲۰ mg/kg عصاره زنجبیل) به طور معنی داری افزایش یافته است. در گروه چهار نیز در مقدار نسبت آلبومین به گلوبولین افزایش دیده می شود ولی افزایش معنی دار نیست، در این گروه احتمالاً به علت افزایش شدید مقدار آلفا-۱-گلوبولین، نسبت آلبومین به گلوبولین به مقدار جزئی تری افزایش نشان داده است. مقدار آلبومین و گلوبولین ها و همچنین نسبت این دو پروتئین تصویری از عمل کبد به ما می دهد. افزایش در مقدار آلبومین در گروه سه و چهار و افزایش در نسبت آلبومین به گلوبولین (در گروه سه به طور معنی دار و در گروه چهار به طور غیر معنی دار)

نشان می‌دهد که تزریق زنجبیل باعث افزایش در فعالیت کبد می‌شود.

سنتز آلبومین در بیماری‌های مختلف به خصوص در بیماری‌های کبدی، کاهش می‌یابد و در پلاسما مبتلایان به بیماری‌های کبدی غالباً نسبت آلبومین به گلوبولین، کاهش نشان می‌دهد.

در مورد زنجبیل، حکمای طب سنتی نیز بر این باورند که مقوی کبد است و گرفتگی‌های کبد را باز می‌کند (۱۸)، همچنین تحقیقات Bhandari و همکارانش، موید این مطلب است. آنها اثر عصاره الکلی زنجبیل را روی کبدی که به وسیله مشروب آسیب دیده بررسی کرده‌اند که نتایج نشان داد مصرف عصاره الکلی زنجبیل (۲۰۰ mg/kg) به صورت دهانی از روز پانزدهم تا بیست و یکم، باعث کاهش معنی‌دار اسپاراتات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم و کاهش در مقدار پروکسید لیپید بافتی شد (۱۹).

برای بررسی بیشتر اثر عصاره زنجبیل بر روی فعالیت کبد، پیشنهاد می‌گردد باید آزمایشاتی در مورد بیلی روبین توتال، AST، ALT و آلکالین فسفاتاز و

مطالعات بافت شناسی صورت گیرد، نقش زنجبیل بر روی مدل حیوانی بیماری کبدی مورد بررسی قرار گیرد و در صورت درمان، زنجبیل به عنوان داروی درمان کننده بیماری‌های کبدی مورد مطالعه قرار گیرد و همچنین لازم است به سایر روش‌های مصرفی این گیاه مانند روش مصرف دهانی نیز توجه گردد.

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه زنجبیل تاثیری در سنتز گلوبولین‌ها نداشت به نظر می‌رسد بدون تحریک آنتی ژنیک نمی‌توانسته تاثیر قابل ملاحظه‌ای در تولید گلوبولین‌ها داشته باشد. ولی با توجه به این که سنتز آلبومین در کبد انجام می‌گیرد، افزایش سنتز آلبومین را می‌توان به عنوان یک نشانه در بهبود فعالیت سلول‌های کبدی پیشنهاد نمود.

تشکر و قدردانی:

از کلیه همکاران و عزیزانی که در این طرح تحقیقاتی ما را یاری دادند تقدیر می‌گردد.

منابع:

1. Lako J, Trenerry C, Wahlqvist ML. Total antioxidant capacity and selected flavonols and carotenoids of some Australian and Fijian fruits and vegetables. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004; 13(Suppl): S127.
2. Ficker C, Smith ML, Akpagana K, Gbeassor M, Zhang J, Durst T, et al. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. *Phytother Res.* 2003 Sep; 17(80): 897-902.
3. Liu N, Huo G, Zhang L, Zhang, X. Effect of *Zingiber officinale* Rosco on lipid peroxidation in hyperlipidemia rats. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2003 Jun; 32(1): 22-3.
4. Ficker CE, Arnason JT, Vindas PS, Alvarez LP, Akpagana K, Gbeassor M, et al. Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extracts. *Mycoses.* 2003 Feb; 46(1-2): 29-37.
5. Frisch C, Hasenohrl RU, Mattern CM, Hacker R, Huston JP. Blockade of lithium chloride- induced conditioned place aversion as a test for antiemetic agents: comparison of metoclopramide with combined extracts of *Zingiber officinale* and *Ginkgo biloba*. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995; 52: 321-7.

6. Bordia A, Verma SK, Srivastava KC. Effect of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.) on blood lipids, blood sugar and platelet aggregation in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1997 May; 56(5): 379-84.
7. Thamsom M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, Alnaqeeb MA, Khan I, Ali M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2002 Dec; 67(6): 475-8.
8. Janes ME, Nannapaneni R, Johnson MG. Identification and characterization of two bacteriocin-producing bacteria isolated from garlic and ginger root. *J Food Protect*. 1999; 62(8): 899-904.
9. Lee E, Park KK, Lee JM. Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae). *Carcinogenesis*. 1998 Aug; 19(8): 1377-81.
10. Nagasawa H, Watanabe K, Inatomi H. Effects of bitter melon (*Momordica charantia* L.) or ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on spontaneous mammary tumorigenesis in SHN mice. *Am J Chin Med*. 2002; 30(2-3): 195-205.
11. Jeyakumar S, Nalini N, Venugopal M. Antioxidant activity of ginger in rats fed a high fat diet. *Med Sci Res*. 1999; 27: 341-44.
12. Akoachere JF, Ndip RN, Chenwi EB, Ndip LM, Njock TE, Anong DN. Antibacterial effect of *Zingiber officinale* and *Garcinia kola* on respiratory tract pathogens. *East Afr Med J*. 2002 Nov; 79(11): 588-92.
13. Hashimoto K, Satoh K, Murata P, Makino B, Sakakibara I, Kase Y, et al. Component of *Zingiber officinale* that improves the enhancement of small intestinal transport. *Planta Med*. 2002 Oct; 68(10): 936-9.
14. Gabardi S, Cormier C, Cina J, Luyckx VA. Renal dysfunction associated with herbal remedies and dietary supplements. *Nephrology Rounds*. 2003 Jun; 2: 304-14.
15. West JB. *Best and tailors physiological basis of medical practice*. London: Williams & Wilkins; 1985. p: 334-40.
16. Liu H, Zhu Y. Effect of alcohol extract of *Zingiber officinale* Rosc on immunologic function of mice with tumor. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2002 Jun; 31(3): 208-9.
17. Dugenci SK, Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J Ethnopharmacol*. 2003 Sep; 88(1): 99-106.
18. Isnard Bagnis C, Deray G, Baumelou A, Le Quintrec M, Vanherweghem JL. Herbs and the kidney. *Am J Kidney Dis*. 2004 Jul; 44(1): 1-11.
19. Bhandari U, Shamsher AA, Pillai KK, Khan MSY. Antihepatotoxic activity of ginger ethanol extract in rats. *Pharm Biol*. 2003; 41(1): 68-71.